Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Obecné informace

Description	Buněčná linie iPSC-hDPSC představuje špičkový model odvozený z lidských kmenových buněk zubní dřeně (hDPSC). Tyto buňky pocházejí z tkáně zubní dřeně, kde se podrobí enzymatickému štěpení, aby se izolovala adherentní frakce. Po dosažení 70-80% konfluence jsou buňky subkultivovány a kryokonzervovány ve stádiu 1. Tento základní krok má zásadní význam pro zachování buněčné integrity a zajištění životaschopnosti kmenových buněk pro budoucí použití. Významným pokrokem je přeprogramování hDPSC na indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC), kterého bylo dosaženo pomocí techniky epizomálního přeprogramování. Tato metoda využívá vektory, které obsahují faktory Yamanaka - Oct-4, Sox-2 a Klf-4 - spolu s p53 Anti-sense, EBNA-1 a markerem červeného fluorescenčního proteinu. Epizomální přístup je obzvláště výhodný, protože se vyhýbá integraci reprogramovacích faktorů do genomu, čímž se zachovává genetická stabilita iPSC. Výsledná linie iPSC-hDPSC vykazuje pluripotentní vlastnosti, což z ní činí cenný nástroj pro výzkum v oblasti regenerativní medicíny, modelování nemocí a objevování léčiv.
Organism	Člověk
Tissue	Třetí molár
Disease	Normální dárce
Applications	Modelování nemocí, objevování léčiv a testování toxicity, regenerativní medicína, genetický výzkum, studie vývojové biologie

Charakteristika

Ethnicity	Kavkazský
Morphology	IPSC, kolonie s definovanými okraji
Cell type	Kmenové buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	iPSC-hDPSC (katalogové číslo Cytion 300622)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Tato linie lidských iPSC (iPSC-hDPSC) obsahuje epizomální plazmidy kódující OCT4, SOX2, KLF4 a c-MYC, které podporují reprogramování dentálních stromálních buněk. Konstrukty jsou udržovány bez virových sekvencí. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Chcete-li zlepšit proces oddělování a opětovného osazování buněk, postupujte podle následujících kroků: 1. Odstraňte použité médium a opláchněte buňky PBS (bez vápníku a hořčíku). 2. Přidejte oddělovací roztok a nechte jej působit podle pokynů výrobce. 3. Opatrně přidejte k buňkám čerstvé médium. 4. Jemně buňky oddělte, aby došlo k jejich minimálnímu poškození. 5. Potáhněte čerstvou šestijamkovou kultivační destičku vitronectinem a disociované buňky nasaďte do dvou jamek pro další kultivaci.
Seeding density	Pro zajištění optimálního růstu buněk a konzistence experimentu se doporučuje použít hustotu výsevu 5 000 až 10 000 buněk/cm^2, jakmile se buňky přizpůsobí kultivačním podmínkám.
Fluid renewal	Denně
Post-Thaw Recovery	Rychle
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme 80 % FBS + 10 % bazálního média + 10 % DMSO pro udržení životaschopnosti nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100) pro vynikající kryoprotekci, která zabraňuje nežádoucí diferenciaci a zároveň zachovává pluripotenci a buněčnou integritu.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.